

NOUVEAUX ALCALOÏDES OXINDOLIQUES DU *STRYCHNOS USAMBARENSIS* GILG

par L. ANGENOT

(Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège,
Rue Fusch, 5 B-4000 Liège, Belgique)

RÉSUMÉ

C'est la première fois que des alcaloïdes oxindoliques sont découverts dans le genre *Strychnos*. Il s'agit de nouvelles molécules bis-indoliques, isolées à partir de feuilles du *Strychnos usambarensis* et nommées strychnofoline, isostrychnofoline ($C_{30}H_{34}N_4O_2$), strychnophylline, isostrychnophylline ($C_{35}H_{43}N_5O_2$). L'élucidation de la structure et la stéréochimie de ces 2 paires d'épimères sont également discutées sur la base des spectres UV, IR, RMN, de masse et de dichroïsme circulaire, ainsi que d'après les résultats de la diffraction aux rayons X.

SUMMARY

New oxindole alkaloids from *Strychnos usambarensis* leaves.

It is the first time that oxindole alkaloids are found in a *Strychnos* species. Strychnofoline and isostrychnofoline ($C_{30}H_{34}N_4O_2$) as well as strychnophylline and isostrychnophylline ($C_{35}H_{43}N_5O_2$) are new bis-indole alkaloids: the elucidation of structure and their stereochemistry are also discussed; UV, IR, NMR, MS and CD data are provided.

INTRODUCTION

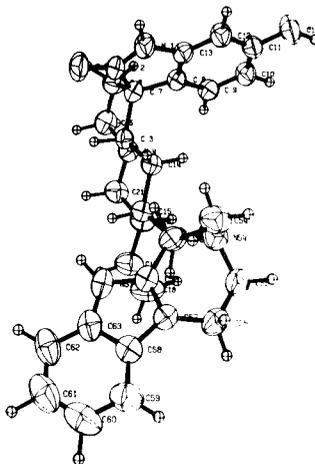
Le *Strychnos usambarensis* d'Afrique Centrale fait l'objet d'études intensives à Liège depuis plusieurs années, ce qui a abouti à l'identification de 24 alcaloïdes dont 19 molécules nouvelles [1 à 4]. Nous relatons dans cette publication la caractérisation de 4 alcaloïdes supplémentaires. Leur analyse a révélé qu'il s'agissait de 2 paires d'alcaloïdes nouveaux dimères asymétriques, épimères au niveau d'un groupe oxindole. Ces substances dérivent d'autres alcaloïdes phénoliques présents dans les feuilles: l'usambaridine Br et la strychnopentamine [4].

RÉSULTATS PHYTOCHIMIQUES

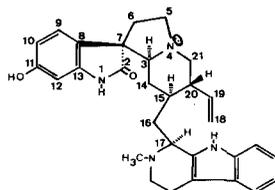
— GROUPE STRYCHNOFOLINE.

A. La strychnofoline est l'alcaloïde principal des feuilles de ce *Strychnos*. Il a cristallisé en prismes dans l'éthanol absolu; ce fait a permis son

identification structurale par la diffraction aux rayons X [7], quand il a été constaté par spectrométrie de masse à haute résolution qu'il s'agissait d'une nouvelle molécule (Formule 1).



1a. — Vue stéréoscopique de la strychnofoline.

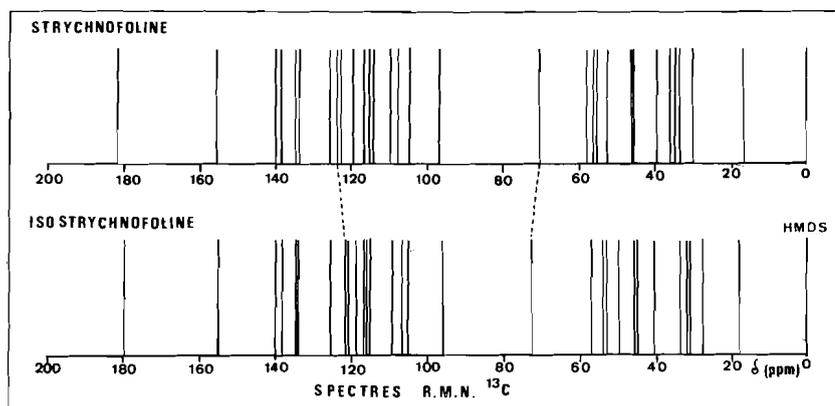


1b. — Strychnofoline avec la numérotation usuelle des phytochimistes [12].

La strychnofoline a la configuration 3 S, 4 R, 7 S, 15 S, 17 S et 20 R suivant les conventions régissant la stéréochimie [10]. C'est un alcaloïde oxindolique de la série A puisque le groupe carbonyle oxindolique est situé au-dessous du plan des cycles C et D.

Les analyses spectrales classiques sont en accord avec cette structure. Le spectre UV correspond au chromophore indolique. Le déplacement en milieu alcalin traduit l'existence d'une fonction phénolique. Le spectre IR est caractéristique d'un indole non substitué à 745 cm^{-1} , d'une chaîne vinylique à 918 cm^{-1} , d'un carbonyle (oxindole) à 1.705 cm^{-1} , d'une jonction *trans* des cycles C et D (bandes Bohlmann à 2.800 cm^{-1}). Le spectre de masse montre une fragmentation comparable à celle des alcaloïdes bis-indoliques du type de la cinchophyllamine, dont la structure vient d'être révisée [9]. Le spectre de RMN¹H permet surtout d'observer les signaux de la partie oxindolique phénolique et ceux de la chaîne vinylique.

La configuration spatiale au niveau du C₇ (spiro) peut aussi être déduite des valeurs de déplacement chimique des C₃ et C₉ sur les spectres de RMN ¹³C dont l'analyse détaillée sera publiée ultérieurement.



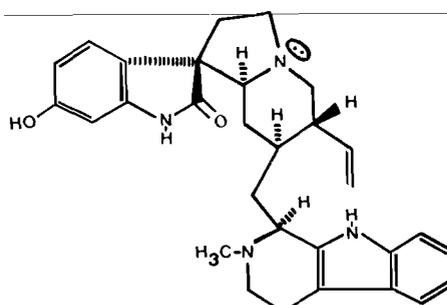
Quand on compare ces spectres à ceux de la rhynchophylline et de l'isorhynchophylline [6], on constate que la strychnofoline présente bien la même configuration au niveau du C₇ que l'isorhynchophylline car les signaux des C₃ et C₉ sont à des valeurs plus distantes l'une de l'autre (70,2 et 123,6 ppm) que dans le cas de l'isostrychnofoline où les mêmes carbones sont situés à 72,6 et 121 ppm.

L'application des courbes de dichroïsme circulaire (DC) à l'étude des alcaloïdes oxindoliques a fait l'objet de diverses études [13, 5]. Cependant leurs résultats ne peuvent être extrapolés à l'étude de nos alcaloïdes qui présentent deux chromophores distincts intervenant de façon sensible dans le profil du spectre (oxindole d'une part, N₆-méthyl-tétrahydro-β-carboline d'autre part). Les amplitudes ont des valeurs assez variables ; néanmoins, dans le cas des alcaloïdes dimères bis-indoliques non oxindoliques, le profil de la courbe peut être le résultat de la superposition des 2 contributions positives quand les H₃ et H₁₇ ont la configuration S [11]. Cependant pour les oxindoles de la série 3S, la configuration en 7 influence fortement le signe de la bande visible entre 275 et 285 nm.

C'est ainsi que pour la strychnofoline (oxindole de la série A), on observe un dichroïsme négatif, bien que H₃ et H₁₇ aient la configuration S. Par contre, avec les oxindoles de la série B (cas de l'isostrychnofoline) on observe bien un dichroïsme positif, résultant de la superposition de toutes les contributions positives.

B. — L'isostrychnofoline est présente en quantité nettement moins importante dans les feuilles (environ le quart de la quantité de strychnofoline). Cet alcaloïde présente de grandes analogies spectrales (UV, IR, SM) avec son isomère, la strychnofoline.

Dans les spectres de RMN ^1H , la seule différence notable se situe dans la partie aromatique où le signal du H_9 apparaît à un champ plus élevé que le massif de protons aromatiques. Dans le cas de la strychnofoline, le doublet de l'azote (N_4) déblindé le proton du C_9 et il en résulte un déplacement du signal de ce proton vers les champs faibles. Inversément, dans le cas de l'isostrychnofoline, ce qui indique une position de la liaison 2-7 « syn » par rapport au doublet électronique de N_4 . L'isostrychnofoline appartient donc à la série B et doit avoir la formule 2.



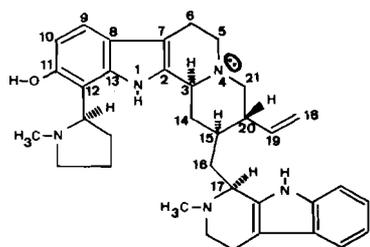
2. Isostrychnofoline.

Cette supposition a été corroborée par les expériences classiques d'épimérisation des alcaloïdes oxindoliques [6, 14]. On sait que dans l'acide acétique, les alcaloïdes oxindoliques chauffés à reflux sous azote forment préférentiellement (environ 80 %) les isomères à configuration 7 R. Dans cette configuration, la fonction lactame est « syn » par rapport au doublet libre de l'azote, par formation d'une liaison hydrogène entre le carbonyle et le proton de l'acide conjugué qui stabilise la forme protonée ; c'est ainsi que l'isostrychnofoline (7 R) prédomine en ce milieu.

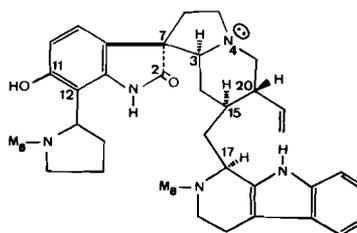
Par contre, dans la pyridine, chauffée à reflux sous azote, il y a formation préférentielle du dérivé « anti » (7 S). La forme 7 R est dans ce cas déstabilisée par répulsion électrostatique entre le groupe lactame et la paire d'électrons libres de N_4 dans la base libre ; la forme 7 S (strychnofoline) s'en trouve favorisée.

— GROUPE STRYCHNOPHYLLINE.

C. — La strychnophylline est un alcaloïde mineur des feuilles du *S. usambarensis*. Sa structure a été établie par comparaison de ses spectres avec ceux de la strychnopentamine et de la strychnofoline. La structure de la strychnopentamine (3) a d'abord été établie par diffraction aux rayons X [8] ; ses valeurs spectrales classiques ont été publiées récemment [4]. L'analyse des spectres de la strychnophylline a fait pressentir que nous étions en présence de l'alcaloïde oxindolique dérivé de la strychnopentamine et qu'il possédait dès lors la formule 4.



3. Strychnopentamine.

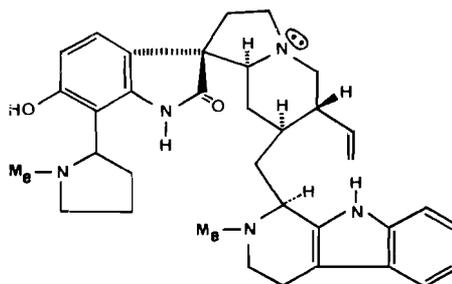


4. Strychnophylline.

Connaissant les propriétés que possèdent les oxindoles de s'épimériser facilement, il s'est avéré que la strychnophylline se comportait de la même façon que la strychnofoline (7 S).

La courbe de DC est également en accord avec cette stéréochimie. La configuration absolue de la molécule entière ne peut être établie avec certitude mais est proposée par comparaison avec les autres alcaloïdes isolés des feuilles. Seule la configuration au niveau de la méthylpyrrolidine greffée sur le cycle benzénique de la partie corynane n'est pas précisée.

D. — L'isostrychnophylline n'a été décelée qu'en traces dans les feuilles. Elle possède la configuration 7 R représentée sur la figure 5, d'après les expériences d'épimérisation et les courbes de dichroïsme circulaire.



5. Isostrychnophylline.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

GÉNÉRALITÉS.

Le schéma d'extraction a été exposé ailleurs [4]. Il importe d'utiliser le chloroforme comme solvant d'extraction et d'éviter l'éther qui est un très mauvais solvant des alcaloïdes phénoliques. La purification finale a été effectuée par CCM sur silicagel dans un des 2 systèmes ci-après :

système A = acétate d'éthyle-isopropanol-NH₄OH conc. 90 : 8 : 2

système B = acétate d'éthyle-isopropanol-NH₄OH conc. 92 : 10 : 3.

Les alcaloïdes présentés dans ce travail sont révélés par les réactifs classiques des phénols et en particulier par le sel de Bleu solide B (Echtblau salz B MERCK) qui produit une coloration pourpre stable sur les chromatogrammes ; cette coloration permet de distinguer aisément ces alcaloïdes d'autres phénoliques, mais non oxindoliques, présents aussi dans les feuilles, mais faisant apparaître des colorations violettes ou oranges avec ce même réactif.

— IDENTIFICATION. ETUDE STRUCTURALE.

Strychnofoline. — $C_{30}H_{34}N_4O_2$: PM 482, mes. 482,2670 ; calc. 482,268 0, poudre blanche F 175 °C. CCM Rf = 0,46 (système A). SM (abondance en % du pic de base) : 482(23), 467(1), 439(1), 438(1), 412(2), 321(1), 320(1), 307(1), 297(2), 296(2), 295(2), 294(2, 5), 284(8), 283(8), 282(30), 277(2), 265(1), 263(1), 255(2), 199(3, 5), 198(2, 5), 186(16), 185(100). — $C_{12}H_{13}N_2$: mes. et calc. : 185, 1078, 184(3), 176(4), 175(3), 170(6), 156(3), 154(2), 146(4), 144(9), 130(2), 123(9), 122(10), 121(38), 120(6), 108(4), 107(3), 106(13), 93(9).

UV λ nm (log ϵ) MeOH = 220(4, 70), 273(3, 97), 284(3, 98), 291(3, 90). — MeOH + NaOH = 225(4, 72), 275(4), 283(4, 02), 290(3, 95) + épaulement à 305(3, 57). — MeOH + HCl = 270(4, 02), 278(3, 99), 289(3, 84). IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} = 3.360, 2.930, 2.795 (bandes de Bohlmann), 1.705, 1.630, 1.470, 1.340, 1.325, 1.155(é), 1.145, 1.112, 1.050, 918 et 745. RM 1H δ = 7,26-7 (H aromatiques) ; 6,49 (dd H_{10} — J_1 = 8 Hz ; J_2 = 2 Hz) ; 6,32 (d — H_{12} — J = 2 Hz) ; 5,4 — 4,96 (3 H — vinylo) ; 3,46 (m-1 H) ; 2,23 (s. — 3 H, N-Me). DC MeOH $[\Theta]_{285} = - 8.250$.

Isostrychnofoline. — $C_{30}H_{34}N_4O_2$: PM 482 poudre blanche F 182 °C. CCM Rf = 0,23 (système A). SM (abondance en % du pic de base) : 482(21, M^+), 467(1), 439(1), 438(1), 321(1), 320(1), 307(1), 297(2, 5), 296(4), 295(2, 5), 294(3), 284(7), 283(9), 282(31), 281(8), 277(2), 265(1, 5), 263(1), 255(2), 199(4), 198(5), 186(16), 185(100 = pic de base), 184(5), 183(8), 176(4), 175(5), 174(3), 171(3), 170(6), 169(4), 157(3), 156(4), 155(3), 154(3), 146(5), 144(8), 143(4), 130(4), 123(8), 122(8), 121(36), 120(5), 108(5), 107(5), 106(13), 93(8).

UV, cf. Strychnofoline. IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} = 3.370, 2.930, 2.795 (bandes de BOHLMANN), 1.705, 1.632, 1.470, 1.340, 1.325, 1.155, 1.145(é), 1.112, 920 et 742. RM 1H , cf. Strychnofoline excepté la région aromatique, δ = 6,78 (d — H_9 J = 8 Hz) ; 6,36 (dd H_{10} — J_1 = 8 Hz, J_2 = 2 Hz) ; 6,06 (d H_{12} — J = 2 Hz). DC MeOH $[\Theta]_{285} = + 18.150$.

Strychnophylline. — $C_{35}H_{43}N_5O_2$: PM 565 = mes. 565, 344 0 ; calc. 565,341 6, poudre blanche F 216 °C. CCM Rf = 0,88 (système B). SM (abondance en % du pic de base) : 565(25, M^+), 521(1), 483(1), 482(4), 467(2), 466(6), 366(5), 365(20), $C_{22}H_{27}N_3O_2$: mes. 365,208 2 ; calc. 365,210 3 364(3), 321(3), 282(6), 281(5), 278(4), 277(5), 267(4), 266(3), 265(6), 245(8), 244(5), 233(5), 232(18), 200(4), 199(8), 186(16), 185(100 = pic de base),

184(6), 183(15), 182(13), 170(10), 169(5), 168(4), 167(5), 156(6), 155(5), 154(6), 144(12), 143(6), 130(6), 123(5), 122(23), 121(48), 83(60), 82(100).

UV λ nm (log ϵ) MeOH = 225(4, 88), 275(4, 14), 290(4, 06). — MeOH + NaOH : *idem* + épaulement à 310. IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} = 3.350, 2.930, 2.850, 2.795 (bandes de BOHLMANN), 1.705 (oxindole), 1.580, 1.442, 1.387, 1.278, 1.190, 1.160, 1.035, 1.010, 922, 810, 740. RM¹H δ = 8,98 — 8,85 — 7,60 (OH/NH) 7,37 — 7 (H aromatiques) ; 7,03 (d, H₉ — J = 9 Hz) ; 6,36 (d, H₁₀ — J = 9 Hz) ; 5,44 à 4,90 (vinyle), 2,25 (s. 3 H — N-Me) ; 2,22 (s — 3 H, N — Me). DC MeOH [Θ]₂₇₅ : — 7.100.

Isostrychnophylline. — C₃₅H₄₃N₅O₂ : PM 565. CCM Rf = 0,62 (système B).

UV, cf. strychnophylline. IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} = 3.300, 2.940, 2.846, 2.795 (bandes de BOHLMANN), 1.705 (oxindole), 1.590, 1.440, 1370, 1.278, 1.220, 1.190, 1.160, 1.035, 916, 800, 745. DC MeOH [Θ]₂₇₅ = + 20.700.

CONCLUSIONS

C'est la première fois que des alcaloïdes oxindoliques sont signalés dans une espèce de *Strychnos*. Les alcaloïdes oxindoliques représentent environ 5 % des alcaloïdes indoliques connus. Ils ont été isolés de *Gelsemium sempervirens* AIT (Loganiaceae), des espèces de *Mitragyna*, *Pseudocinchona*, *Uncaria* (Rubiaceae), d'*Aspidosperma*, *Catharanthus*, *Rauwolfia* et *Vinca* (Apocynaceae) dont les similitudes chimiotaxinomiques avec les *Strychnos* sont ainsi renforcées.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANGENOT (L.), DUBOIS (M.), GINION (C.), VAN DORSSER (W.) et DRESSE (A.). — *Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.* 1975, **215**, 246.
- [2] ANGENOT (L.), DIDEBERG (O.) et DUPONT (L.). — *Tetr. Lett.* 1975, 1357.
- [3] ANGENOT (L.). — *Planta Med.* 1975, **27**, 24.
- [4] ANGENOT (L.), COUNE (C.) et TITS (M.). — *J. Pharm. Belg.* 1978, **33**, 11.
- [5] BEACHAM (A. F.), HART (N. K.), JOHNS (S. R.) and LAMBERTON (J. A.). — *Tetr. Lett.*, 1967, 991.
- [6] BINDRA (J. S.). — Oxindole alkaloids in « the Alkaloids - Chemistry and Physiology », Ed. MANSKE (R. H. F.), Vol. XIV, New York, London 1973 (p. 84-122).
- [7] DIDEBERG (O.), LAMOTTE-BRASSEUR (J.), DUPONT (L.), CAMPSTEYN (H.), VERMEIRE (M.) et ANGENOT (L.). — *Acta Cryst.* 1977, **B 33**, 1796.
- [8] DUPONT (L.), LAMOTTE-BRASSEUR (J.), DIDEBERG (O.), CAMPSTEYN (H.), VERMEIRE (M.) et ANGENOT (L.). — *Acta Cryst.* 1977, **B 33**, 1801.
- [9] GUILHEM (J.). — *Acta Cryst.* 1974, **B 30**, 742.
- [10] KLYNE (W.) and BUCKINGHAM (J.). — Atlas of Stereochemistry - Absolute Configuration of Organic Molecules, 311 p. CHAPMAN and HALL, Ed. London, 1974.
- [11] KOCH (M.), PLAT (M.) et PREAUX (N.). — *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1973, 2868.
- [12] LE MEN (J.) et TAYLOR (W. I.). — *Experientia*, 1965, **21**, 508.
- [13] POUSET (J. L.), POISSON (J.) et LEGRAND (M.). — *Tetr. Lett.* 1966, 6283.
- [14] SAXTON (J. E.). — Alkaloids of *Mitragyna*... in « The Alkaloids - Chemistry and Physiology », Ed. MANSKE (R. H. F.), Vol. XIV, New York, London 1973 (p. 123-156).